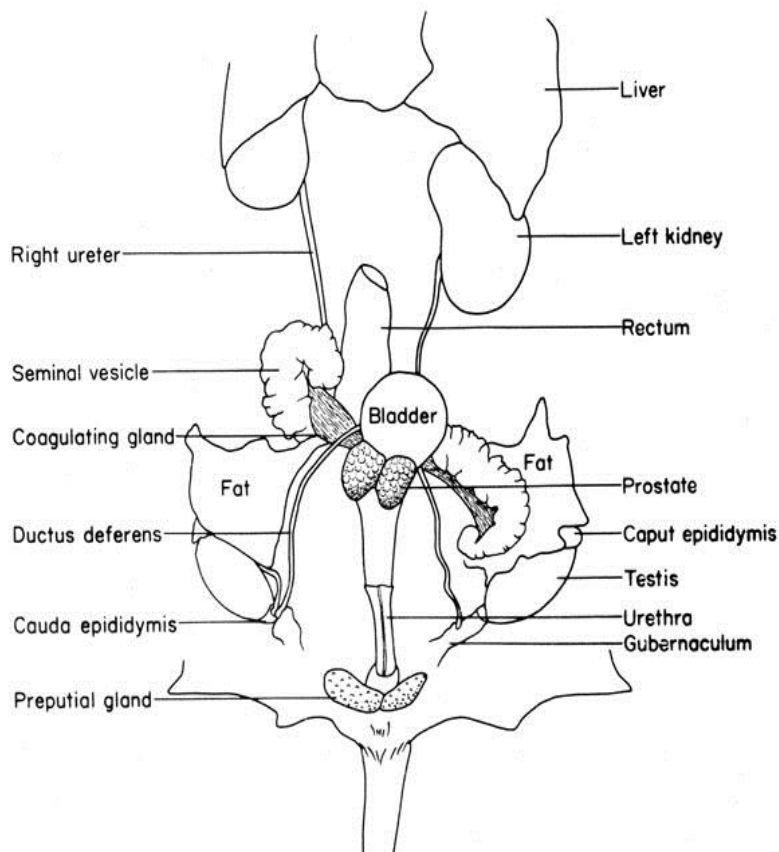


II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Ginjal

1. Anatomi Ginjal Mencit

Ginjal mencit merupakan sepasang organ yang berbentuk seperti kacang yang terletak retroperitoneal (Gambar 3) di kedua sisi tulang punggung. Keduanya tidak melekat langsung pada dinding tubuh tetapi dilapisi jaringan lemak. Ginjal kanan lebih besar, lebih berat dan terletak lebih anterior. Ginjal mencit jantan lebih berat dan lebih besar. Bentuk dan ukuran ginjal bervariasi pada tiap galur, misalnya pada galur C58, 10-20 % dari galur tersebut hanya mendapati satu atau bahkan kedua ginjalnya mengecil atau hilang (Green dan kawan-kawan, 2007).



Gambar 3. Anatomi Ginjal Mencit (Cook, 2010)

Ginjal mencit mendatar dorsoventral dan memiliki luas cembung ke arah lateral serta memiliki batas tengah pendek cekung. Cekungan adalah hilus dimana pembuluh darah dan ureter bersatu. Ginjal terdiri dari dua lapis yang dapat dilihat tanpa bantuan lensa jika ginjal dibelah menjadi dua yaitu korteks dan medula. Korteks mengikuti kontur perbatasan cembung dan medula seperti piramida yang luas dengan dasar cembung. Puncak piramida adalah papila yang dikelilingi oleh panggl, ujung anterior diisi corong seperti ureter (Green, 2007).

2. Histologi Ginjal

Ginjal diliputi oleh kapsula ginjal yang terdiri atas jaringan penyambung padat. Bagian luar ginjal disebut korteks dan bagian luar disebut medulla. Pada bagian medulla banyak terdapat nefron (unit fungsional ginjal) yang terdiri dari korpus renal, tubulus kontortus proksimal, ansa henle dan tubulus kontortus distalis. Setiap korpus renal bergaris tengah kira-kira 200 μm dan terdiri atas seberkas kapiler glomerulus yang dikelilingi oleh kapsula bowman (Junqueira, 2007)

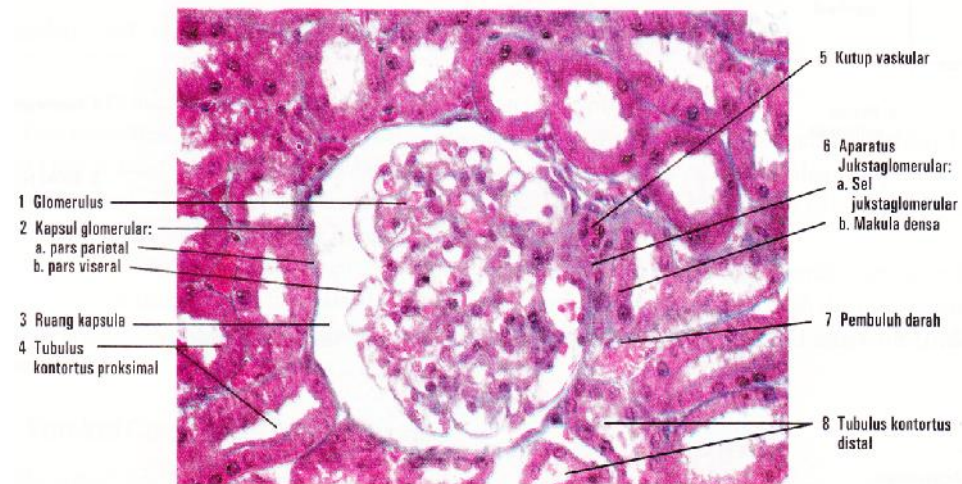
Nefron merupakan satu kesatuan unit fungsional dari ginjal, masing-masing ginjal manusia terdiri dari kurang lebih 1 juta nefron, setiap nefron mempunyai dua komponen utama, yaitu: glomerulus (kapiler gromelurus) dan tubulus (Guyton, 2004).

Nefron terdiri atas bagian yang melebar, korpuskulus renal; tubulus kontortus proksimal, segmen tipis dan tebal ansa Henle; dan tubulus kontortus distal. Pada kutub urinarius pada korpuskulus renal, epitel gepeng dari lapisan parietal kapsul Bowman, berhubungan langsung dengan epitel silindris dari tubulus kontortus proksimal. Tubulus ini lebih panjang dari tubulus kontortus distal dan karenanya tampak lebih banyak dekat korpuskulus renalis dalam labirin korteks. Tubulus ini juga memiliki lumen lebar dan dikelilingi oleh kapiler peritubuler (Junqueira, 2007).

Glomerulus adalah suatu organ epitelio-vaskuler yang dirancang untuk filtrasi ultra dari plasma. Kecuali pada infundibulum yang mengandung arteriol aferen dan eferen, glomerulus secara keseluruhan tertutup oleh kapsula bowman yang berbentuk mangkok dan dilapisi sel epitel parietal. Kapiler glomerulus dilapisi oleh lapisan endothelium, berlubang pori-pori dengan diameter kurang lebih 100 nm dan terletak pada membrana basalis. Di bagian luar membran basalis adalah sel epitel visceral atau podosit (Robbins, 2007).

Tubulus proksimal berjalan berkelok-kelok dan berakhir sebagai saluran yang lurus di medula ginjal (pars descendens Ansa Henle). Tubulus kontortus proksimal terdapat banyak pada korteks ginjal dengan diameter sekitar 60 μm dan panjang sekitar 14 mm. Tubulus kontortus proksimal terdiri dari pars konvoluta yang berada di dekat korpuskulus ginjal dan pars rekta yang berjalan turun di medulla dan korteks, kemudian berlanjut menjadi lengkung Henle di medula (Gartner dan Hiatt, 2007). Fungsi tubulus kontortus proksimal adalah mengurangi isi filtrate glomerulus 80-85% dengan cara reabsorpsi melalui transport dan pompa natrium. Glukosa, asam amino dan protein seperti bikarbonat akan direasorpsi. Epitel yang melapisi tubulus ini adalah selapis kuboid atau silindris yang menunjang dalam mekanisme absorpsi dan ekskresi. Sel-sel epitel ini memiliki sitoplasma asidofilik yang disebabkan oleh adanya mitokondria panjang dalam jumlah besar. Apeks sel memiliki banyak mikrovili

dengan panjang sekitar 1 μm , yang membentuk suatu *brush border* (Junqueira, 2007).



Gambar 4. Korpuskulum renal dan tubulus renal (Eroschenko, 2003)

Pada kutub urinarius dari korpuskulus renal, epitel gepeng dari lapisan parietal kapsula bowman berhubungan langsung dengan epitel silindris dari tubulus kontortus proksimal. Tubulus lebih panjang dari tubulus kontotus distal dan karenanya tampak lebih banyak dekat korpuskulus renal dalam labirin korteks. Tubulus kontortus proksimal dilapisi oleh epitel selapis kuboid atau silindris. Sel-sel epitel ini memiliki sitoplasma asidofilik yang disebabkan oleh adanya mitokondria panjang dalam jumlah besar. Apeks sel memiliki banyak mikrovili dengan panjang kira-kira 1 μm , yang membentuk suatu *brush border* yang menambah luas permukaan penyerapan (Junquera & Carneiro, 2007).

Tubulus kontortus proksimal berlanjut sebagai ansa henle. Ansa henle adalah struktur berbentuk huruf U terdiri atas ruas tebal desenden, dengan struktur yang sangat mirip tubulus kontortus proksimal, ruas tipis asenden dan ruas tebal asenden, yang strukturnya sangat mirip tubulus kontortus distal. Di medulla bagian luar, ruas tebal desenden dengan garis tengah luar sekitar 60 μm , secara mendadak menipis sampai sekitar 12 μm dan berlanjut sebagai ruang tipis desenden. Lumen ruas nefron ini lebar karena dindingnya terdiri atas sel epitel gepeng yang intinya hanya sedikit menonjol ke dalam (Junquera & Carneiro, 2007).

Sedangkan menurut Robin & Kumar (2004), glomerulus dalam keadaan normal secara keseluruhan tertutup oleh kapsula bowman yang berbentuk mangkok dan dilapisi oleh endothelium berlubang berpori-pori yang terletak pada membran basalis dan dibagian luar membrane basalis adalah sel epitel visceral (podosit).

3. Fisiologi Ginjal

Dunia kedokteran biasa menyebutnya 'ren' (renal/*kidney*). Bentuknya seperti kacang merah, berjumlah sepasang dan terletak di daerah peritoneal. Ukurannya kira-kira 11x 6x 3 cm. Beratnya antara 120-170 gram. Struktur ginjal terdiri dari: kulit ginjal (korteks), sumsum ginjal (medula) dan rongga ginjal (pelvis). Pada bagian kulit ginjal terdapat jutaan nefron yang berfungsi sebagai penyaring darah. Setiap nefron tersusun dari Badan Malpighi dan saluran panjang (Tubula) yang

bergelung. Badan Malpighi tersusun oleh Kapsula Bowman yang didalamnya terdapat Glomerulus (Guyton, 2002).

Berikut fungsi dari ginjal (Guyton, 2002):

- a. Menyaring dan membersihkan darah dari zat-zat sisa metabolisme tubuh.
- b. Mengeksresikan zat yang jumlahnya berlebihan.
- c. Reabsorpsi (penyerapan kembali) elektrolit tertentu yang dilakukan oleh bagian tubulus ginjal.
- d. Menjaga keseimbangan asam basa dalam tubuh manusia.
- e. Menghasilkan zat hormon yang berperan membentuk dan mematangkan sel-sel darah merah (SDM) di sumsum tulang.

B. Propolis

Menurut (Suranto, 2004) propolis atau lem lebah adalah suatu zat yang dihasilkan oleh lebah madu. Dikumpulkan oleh lebah dari pucuk daun-daun yang muda untuk kemudian dicampur dengan air liurnya, digunakan untuk menambal dan mensterilkan sarang. Propolis bersifat disinfektan (anti bakteri) yang membunuh semua kuman yang masuk ke sarang lebah. lebah melapisi sarangnya dengan propolis untuk melindungi semua yang ada di dalam sarang tersebut dari serbuan kuman, virus, atau bakteri, misal: ratu lebah, telur, bayi lebah, dan madu. Sifat disinfektan alami yang terkandung dalam propolis sangat ampuh

dalam membunuh kuman, terbukti dengan ditemukannya seekor tikus dalam sarang lebah yang telah mati selama kurang lebih 5 tahun dalam keadaan tidak membusuk.

Propolis adalah resin yang sering disebut sebagai *bee glue* karena teksturnya lengket seperti lem. Propolis diperoleh oleh lebah dengan cara mengumpulkan resin-resin dari berbagai macam tumbuhan. Karena sumbernya bermacam-macam, maka warna, komposisi dan khasiat dari propolis pun bervariasi. Warna propolis mulai dari kuning, coklat bahkan transparan. Komposisi propolis kimia propolis terdiri dari flavonoid yang meliputi hampir 50%, selain itu asam kafeat/ (CAPE) *caffeic acid phenethyl ester*, asam ferulat dan mineral dalam jumlah kecil. Berikut beberapa komposisi dari propolis:

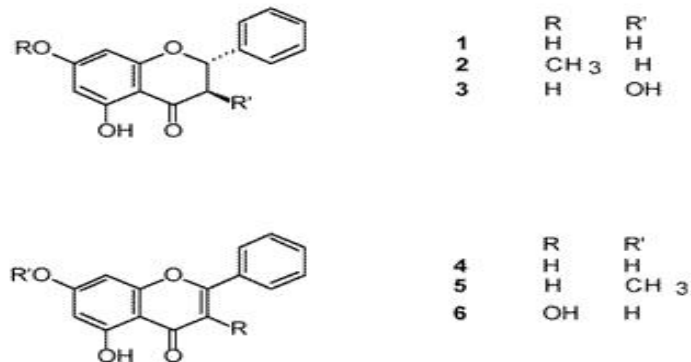
Tabel 1. Komposisi propolis (Suranto, 2004)

Kelas komponen	Grup Komponen	Presentase(%)
Resin	Flavonoid, Asam fenolat ester (CEPA)	45-55
Asam lemak, lilin	Lilin lebah dan zat lain yang berasal dari tumbuhan	25-35
Minyak esensial	Zat yang mudah menguap	10
Polen	Protein (16 asam amino bebas, >1%) arginin, dan prolin sebanyak 46%	5
Bahan organik dan mineral lain	14 mineral (besi, seng, kadmium, lakton, quinon, steroid, asam benzoic, vitamin, gula)	5

1. Kandungan Senyawa Aktif Propolis

Komposisi kimia propolis masih kurang diketahui. Komposisi propolis beragam salah satunya dapat dilihat dari warna dan

aromanya yang berubah-ubah sesuai dengan sumber pohon, jenis lebah, musim dan daerah geografis (Bankova, 2005).



Gambar 5. Struktur kimia propolis

Oleh karena kandungan aktif propolis dipengaruhi oleh letak geografis dan sumber tumbuhan, maka terdapat perbedaan antara propolis di Brasil dengan propolis di China. Propolis Brasil terutama mengandung terpenoid, turunan prenylated. Propolis China banyak mengandung flavonoid dan asam fenolat. Negara lainnya yang terbukti mempunyai kandungan flavonoid tinggi pada propolisnya adalah Argentina, Australia, Bulgaria, Hungaria, New Zealand, dan Uruguay (Kumazawa dan kawan-kawan, 2004).

Bankova (2008) melaporkan adanya temuan kandungan kimia baru pada propolis dari berbagai negara tergantung dari iklim daerahnya. Komponen baru pada daerah beriklim sedang (*temperate zone*) seperti di Eropa, Amerika Utara dan daerah non tropis di Asia, Amerika Selatan, dan di New Zealand, konstituen utamanya adalah flavonoid aglycones, asam aromatik dan esternya. Propolis tipe ini

disebut juga “propolis tipe poplar”, merupakan propolis yang paling sering diteliti baik dari segi kandungan kimia maupun farmakologis. Komponen baru pada daerah beriklim tropis dan subtropis seperti Amerika Selatan banyak mengandung flavonoid dan komponen terkait seperti flavones, flavonol, chalcone, isoflavonoid, dan neoflavonoid. Melalui kajian lebih dalam lagi, jenis spesifik kandungan aktif dari propolis yang pada banyak penelitian mempunyai efek biologis adalah Artepillin-C, PM3 (3-[2-dimethyl-8-(3-methyl-2 butenyl)benzopyran]-6-propenoic acid), CAPE (*caffeic acid phenethyl ester*), Propolin A, Propolin B, dan Propolin C. Artepillin C (3,5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid) diekstrak dari Propolis Brasil mempunyai berat molekul 300.40 dan memiliki efek antimikroba dan antitumor (Kimoto dan kawan-kawan, 2006).

Flavonoid adalah kelompok substansi dari alam yang mempunyai variasi struktur fenol dan banyak ditemukan pada buah, sayur, biji-bijian, kulit batang, akar, bunga, teh dan anggur (*wine*). Flavonoid dapat dibagi menjadi beberapa kelas berdasarkan struktur molekul yaitu kelompok flavones, flavonones, catechins, dan anthocyanins (Manach dan kawan-kawan, 2005).

Jenis flavonones dan catechins merupakan kelompok flavonoids yang terkuat dalam melindungi tubuh terhadap radikal bebas. Quercetin merupakan contoh dari kelompok flavones yang banyak diteliti efeknya (Nijveldt dan kawan-kawan, 2001).

Sedangkan kandungan aktif propolis Indonesia sudah diteliti oleh Syamsudin dan kawan-kawan. (2009) yaitu meneliti kandungan kimia propolis yang berasal dari tiga tempat yang berbeda di Indonesia (Sukabumi, Batang dan Lawang) dan menemukan beberapa bahan kandungan kimia yang pertama kali ditemukan dalam propolis, diketahui bahwa propolis banyak mengandung polifenol salah satunya adalah flavonoid yang merupakan zat yang mempunyai aktifitas antioksidan.

2. Efek Kandungan Aktif Propolis

Komponen utama dari propolis adalah flavonoid dan asam fenolat, termasuk *caffeic acid phenetyl ester* (CAPE) yang kandungannya hampir 50% dari seluruh komposisi. Flavonoid hampir terdapat di spesies bunga. Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Golongan flavonoid mencakup banyak pigmen yang paling umum dan terdapat pada seluruh tumbuhan (Suranto, 2004).

Efek flavonoid yang terpenting adalah dapat menangkap radikal bebas turunan oksigen reaktif. Penelitian *in vitro* juga menunjukkan bahwa flavonoid mempunyai efek antiinflamasi, antialergi, antivirus dan antikarsinogenik. Setiap grup flavonoid mempunyai kapasitas sebagai antioksidan (Amic dan kawan-kawan, 2003).

Kumazawa dan kawan-kawan. (2004) meneliti kandungan polifenol dan flavonoid dari propolis yang berasal dari 16 negara.

Komponen antioksidan diidentifikasi dengan menggunakan analisis HPLC/KCKT dan aktifitas antioksidan diukur dengan menggunakan metode β -carotene bleaching dan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) *free radical scavenging assays system*. Penelitian tersebut menemukan bahwa propolis dari negara Argentina, Australia, Cina, Hungaria, dan New Zealand mempunyai aktifitas antioksidan yang tinggi dan berkorelasi dengan kandungan polifenol dan flavonoid yang dikandungnya. Selain itu diteliti lebih jauh lagi jenis flavonoid yang mempunyai efek antioksidatif yaitu caffeic acid, quercetin, kaempferol, phenethyl caffeate, cinnamyl caffeate, dan artepillin C.

Penelitian lainnya juga mendukung adanya korelasi antara kandungan flavonoid pada propolis dengan aktifitas antioksidan. Dilakukan penelitian pada propolis Romania dan menemukan adanya jenis flavonoid yang mempunyai aktifitas antioksidan yaitu quercetin, rutin, caffeic acid, chrysin, apigenin dan kaempferol (Coneac dan kawan-kawan, 2008).

Geckil dan kawan-kawan. (2005) juga membandingkan aktifitas antioksidan pengkelat logam dari Propolis Turki dengan zat antioksidan sintetik (BHA / *butylated hydroxyanisole* dan BHT / *butylated hydroxytoluene*). Penelitian tersebut menemukan bahwa ekstrak propolis baik *ethanol based* maupun *water based* mempunyai efek metal chelating lebih baik dibanding BHA dan BHT. Selain itu ditemukan juga bahwa efek antioksidan ekstrak

propolis berbasis etanol lebih baik dibanding dengan berbasis air. Seperti telah dijelaskan pada sub-bab sebelumnya, efek radikal bebas dapat merusak sel tubuh termasuk protein sitoplasmik di dalam DNA. Kejadian tersebut juga berhubungan dengan pertumbuhan tumor dimana radikal bebas mungkin beraksi sebagai pembawa pesan sekunder (*secondary messengers*) pada alur transduksi yang mengatur proliferasi selular. Antioksidan dapat menghambat atau menyingkirkan jumlah radikal bebas yang berlebihan sehingga mengurangi kerusakan yang terjadi akibat radikal bebas. Jadi dengan mengurangi peroksida di dalam sel oleh antioksidan akan menghambat terjadinya proses karsinogenesis (Galvao dan kawan-kawan, 2007).

3. Mekanisme Kerja Antioksidan

Dalam pengertian kimia, senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi electron (*elektron donors*). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dihambat, termasuk enzim-enzim dan protein-protein pengikat logam (Pangkahila, 2007).

Berikut merupakan klasifikasi dari antioksidan.

a. Antioksidan Enzimatis, misalnya enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase.

b. Antioksidan Non Enzimatis

Antioksidan non enzimatis terdiri dari:

- 1) Antioksidan larut lemak, seperti α -tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, dan bilirubin.
- 2) Antioksidan larut air, seperti asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme. (Miyazaki dan kawan-kawan, 2000; Winarsi, 2007).

Antioksidan enzimatis dan non enzimatis tersebut bekerja sama memerangi aktivitas senyawa oksidan dalam tubuh. Terjadinya stres oksidatif dapat dihambat oleh kerja enzim-enzim antioksidan dalam tubuh dan antioksidan non enzimatis (Miyazaki dan kawan-kawan, 2000; Winarsi, 2007).

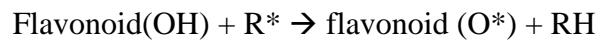
Struktur molekul dari masing-masing kelompok flavonoid sel dan jaringan tubuh selalu terpapar dengan efek perusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dan radikal bebas turunan oksigen atau *reactive oxygen species* (ROS) yang normalnya terbentuk selama metabolisme oksigen atau diinduksi oleh kerusakan eksogen. Radikal bebas dapat mengganggu fungsi selular dengan melakukan peroksidasi lipid yang berakibat kerusakan membran sel. Kerusakan ini dapat menyebabkan perubahan muatan listrik di

sel, perubahan tekanan osmosis, menyebabkan pembengkakan sel dan berakhir pada kematian sel. Radikal bebas dapat menarik bermacam-macam mediator inflamasi yang berkontribusi ke respon inflamasi dan kerusakan jaringan. Dalam rangka mempertahankan diri terhadap ROS, tubuh mempunyai beberapa mekanisme. Mekanisme pertahanan antioksidan tubuh terdiri dari enzim seperti superoksida dismutase, katalase dan glutathion peroksidase, dan juga non-enzim seperti glutathion, asam askorbat, dan α -tokoferol. Peningkatan produksi ROS selama perlukaan menyebabkan konsumsi dan deplesi komponen antioksidan alami tubuh. Flavonoid mempunyai efek adiktif terhadap komponen antioksidan alami. Flavonoid dapat mengganggu lebih dari 3 sistem penghasil radikal bebas yang berbeda, dan juga dapat meningkatkan fungsi antioksidan endogen. Aktifitas Antioksidatif berikut adalah mekanisme antioksidan dari flavonoid yaitu mengikat radikal secara langsung (*direct radical scavenging*), melalui nitrit oksida, xanthin oksidase, imobilisasi leukosit, interaksi dengan sistem enzim lainnya (Nijveldt dan kawan-kawan, 2001)

a. Menangkap Langsung Radikal Bebas (*Direct Radical Scavenging*)

Flavonoid dapat mencegah perlukaan yang disebabkan oleh radikal bebas. Flavonoids dapat menstabilkan ROS dengan bereaksi dengan komponen radikal bebas yang reaktif. Oleh karena tingginya reaktifitas kelompok hidroksil dari flavonoids,

radikal bebas akan dibuat tidak aktif, sesuai dengan reaksi berikut (Nijveldt dan kawan-kawan, 2001)



R* adalah radikal bebas dan O* adalah radikal bebas oksigen. Flavonoid yang selektif dapat secara langsung mengikat radikal bebas, dimana flavonoid lainnya dapat mengikat ROS yang disebut peroksinitrit (peroxynitrite) (Amic dan kawan-kawan, 2003)

b. Mengikat Nitrit Oksida

Beberapa jenis flavonoid, termasuk quercetin, dapat mengurangi perlukaan iskemia-reperfusi (*ischemia-reperfusion injury*) dengan mengganggu aktifitas sintesis nitrit oksida yang dapat diinduksi. Nitrit oksida diproduksi oleh beberapa jenis sel yang berbeda seperti sel endothelial dan makrofag. Produksi nitrit oksida pada awalnya berguna untuk dilatasi pembuluh darah, namun jika produksi nitrit oksida yang berlebihan oleh makrofag dapat menyebabkan kerusakan oksidatif. Pada keadaan ini, makrofag yang teraktivasi dapat menghasilkan nitrit oksida dan superoksida anion yang berlebihan terus menerus (Nijveldt dan kawan-kawan, 2001).

Nitrit oksida akan bereaksi dengan radikal bebas dan dengan demikian akan memproduksi peroksinitrit dalam jumlah besar serta bersifat merusak. Ketika flavonoid digunakan sebagai antioksidan, radikal bebas akan diikat oleh flavonoid sehingga tidak dapat bereaksi lebih lama lagi dengan nitrit oksida dan mengurangi kerusakan. Menariknya, nitrit oksida dapat dianggap sebagai radikal bebas juga dan telah dilaporkan dapat diikat juga oleh flavonoid. Oleh karena itu telah diperkirakan bahwa pengikatan nitrit oksida mempunyai peranan dalam efek terapeutik dari flavonoid. Silibin adalah salah satu flavonoid yang dapat menghambat nitrit oksida (Nijveldt dan kawan-kawan, 2001).

c. Menghambat Xanthin Oksidase

Alur xanthin oksidase mempunyai implikasi penting sebagai rute perlukaan oksidatif pada jaringan khususnya pada keadaan iskemia-reperfusi. Xanthin dehidrogenase dan xanthin oksidase terlibat dalam metabolisme xanthin menjadi asam urat. Xanthin dehidrogenase adalah bentuk enzim yang muncul dalam keadaan normal, namun konfigurasinya dapat berubah menjadi xanthin oksidase pada keadaan iskemik. Xanthin oksidase adalah sumber dari radikal bebas turunan oksigen reaktif. Pada fase reperfusi (reoksigenasi), xanthin oksidase bereaksi dengan molekul oksigen dengan demikian akan melepaskan

radikal bebas superoksida. Sedikitnya 2 jenis flavonoid, quercetin dan silibin, menghambat xanthin oksida sehingga menurunkan perlukaan oksidatif (Nijveldt dan kawan-kawan, 2001).

d. Imobilisasi Leukosit

Imobilisasi dan adhesi yang kuat leukosit ke sel endotel adalah mekanisme lainnya yang bertanggung jawab untuk terbentuknya radikal bebas turunan oksigen reaktif dan juga terlepasnya oksidat sitotoksik, mediator inflamasi dan aktivasi sistem komplemen. Dalam situasi normal, leukosit bergerak dengan bebas sepanjang dinding endotel. Namun, selama kondisi iskemia dan inflamasi, beberapa mediator turunan endothelial utama dan faktor komplemen dapat menyebabkan adhesi leukosit ke dinding endothelial, sehingga mengimobilisasi leukosit selama reperfusi. Penurunan jumlah leukosit yang imobilisasi oleh flavonoid berhubungan dengan total komplemen di serum dan merupakan mekanisme protektif melawan kondisi yang berhubungan dengan inflamasi, seperti perlukaan reperfusi. Beberapa flavonoid dapat mencegah terjadinya degranulasi neutrofil tanpa mempengaruhi produksi superoksida, efek hambat beberapa flavonoid pada degranulasi sel mast ditunjukkan oleh karena modulasi reseptor kanal kalsium dalam membran plasma (Nijveldt dan kawan-kawan, 2001).

e. Interaksi dengan Sistem Enzim Lainnya

Ketika ROS bereaksi dengan besi (Fe) maka menghasilkan peroksidasi lipid. Flavonoid spesifik dapat menyingkirkan besi (*chelate iron*) sehingga menghilangkan faktor penyebab terjadinya radikal bebas. Quercetin diketahui mempunyai efek *iron-chelating* dan *iron-stabilizing*. Flavonoid juga dapat mengurangi aktivasi komplemen sehingga akan mengurangi adhesi sel inflamasi ke dinding endothelial dan akhirnya menghilangkan respon inflamasi. Gambaran lainnya flavonoid adalah dapat mengurangi terlepasnya peroksidase. Pengurangan ini dapat menghambat produksi ROS oleh netrofil. Efek flavonoid lainnya adalah inhibisi metabolisme asam arakidonat. Efek ini merupakan efek antiinflamasi dan antitrombogenik dari flavonoid. Pelepasan asam arakidonat adalah awal dari respon inflamasi. Neutrofil yang mengandung lipoksigenase menghasilkan komponen kemotaksis dari asam arakidonat dan juga merangsang pelepasan sitokin (Nijveldt dan kawan-kawan, 2001).

4. Dosis, Efek Samping, dan Toksisitas Propolis

Propolis mempunyai toksisitas oral akut yang rendah atau bahkan tidak toksik. Pada penelitian dengan menggunakan mencit membuktikan bahwa propolis tidak toksik dan mempunyai LD (*lethal dose*) 2.000 sampai 7.300 mg/kg. Sforcin (2007) merekomendasikan

konsentrasi yang aman untuk manusia adalah 1.4 mg/kg atau hampir 70 mg/hari. Kadar NOEL (*No Effect Level*) pada mencit adalah 1400 mg/kg (Hunter, 2006).

Penelitian pada tikus dengan pemberian dosis propolis yang berbeda (1, 3, dan 6 mg/kg/hari), pelarut yang berbeda (air dan etanol), dan variasi lama pemberian (30, 90, dan 150 hari) didapatkan hasil tidak ada perbedaan yang bermakna dalam hal total lipid, trigliserid, kolesterol, kolesterol-HDL, AST, dan LDH. Propolis juga tidak mempengaruhi berat badan tikus setelah pemberian (Sforcin, 2007).

Selain itu penelitian pada tikus yang dilakukan Decastro (1995), tidak ada efek samping terlihat dalam pemberian oral dengan dosis lebih tinggi dari 4000 mg/kg/hari selama dua minggu dan dosis 1400 mg/kg/hari dalam air minum selama 90 hari.

C. Etanol

Etanol merupakan salah satu dari kelompok campuran kimia organik dengan sebuah hidrogen (H) yang melekat pada karbon digantikan oleh sebuah hidroksil (OH), etanol, C_2H_5OH terbuat dari karbohidrat melalui fermentasi dan secara sintesis dari ethylene atau acetylene, yang telah digunakan dalam minuman dan sebagai pelarut, vehikulum, dan pengawet (Stedman, 2005)

Menurut Das dan kawan-kawan (2008) setelah mengkonsumsi minuman beralkohol maka etanol dan hasil metabolitnya melewati ginjal dan dieksresikan melalui urine, kadar etanol dan metabolitnya tersebut lebih tinggi pada darah maupun hati. Sehingga etanol secara terus menerus dapat merubah struktur dan fungsi ginjal dalam mengatur volume cairan dan komposisi elektrolit dalam tubuh.

1. Efek Etanol Terhadap Tubuh

Etanol dapat menyebabkan perubahan perbandingan $NAD^+/NADH$ dalam sel. Etanol di metabolisme enzim alkohol dehydrogenase menjadi asetaldehid yang kemudian diubah kembali oleh enzim alkohol dehydrogenase menjadi asetat. Reaksi-reaksi tadi dapat membentuk molekul $NADH$ yang meningkatkan kebutuhan oksigen dan produksi ROS. Produksi asetaldehid juga dapat menyebabkan pembentukan radikal bebas dan kerusakan sel beserta strukturnya seperti membran sel dan mitokondria sehingga sel menjadi rusak dan mengalami penurunan produksi ATP (Wu dan Cedebaum, 2004)

Radikal bebas adalah sekelompok bahan kimia baik berupa atom maupun molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya. Radikal bebas sangat reaktif, maka mempunyai spesifitas kimia yang rendah sehingga dapat bereaksi dengan berbagai molekul lain seperti protein, lemak, karbohidrat dan *Deoxi Nucleic Acid* (DNA) (Droge, 2002). Radikal bebas terpenting dalam tubuh

adalah radikal derivat dari oksigen yang disebut kelompok oksigen reaktif (*reactive oxygen species* atau ROS) termasuk didalamnya adalah triplet ($3O_2$), tunggal (singlet/ $1O_2$), anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil ($-OH$), nitrit oksida (NO^-), peroksinitrit ($ONOO^-$), asam hipoklorus ($HOCl$), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal alkoksil (LO^-) dan radikal peroksil (LO_2). Radikal yang mengandung hidrogen hasil penyerangan atom H (H^-) dan bentuk lain adalah radikal mengandung sulfur yang diproduksi pada oksidasi glutation menghasilkan radikal thiyl ($R-S$) (Proctor, 1984; Araujo, 1998).

Radikal bebas ini akan bereaksi dengan *poly-unsaturated fatty acid's* (PUFAs) atau asam lemak tidak jenuh ganda yang menyebabkan terbentuknya lemak peroksida. Ketidakseimbangan antara produksi senyawa oksigen reaktif dengan kemampuan pertukaran antioksidan mengalami gangguan sehingga menggoyahkan rantai reduksi-oksidan normal, hal ini mengakibatkan kerusakan oksidatif jaringan. Keadaan ini diduga sebagai salah faktor pendorong timbulnya beberapa penyakit (Wuryastuti, 2000).

Pengaruh penggunaan etanol dapat berupa peningkatan eksresi urin akibat penghambatan sekresi hormon anti diuretik pada kelenjar hipofisis posterior, pengaruh lainnya dapat terjadi inkontinesia urin khususnya pada usia tua. Sedangkan penggunaan etanol yang kronis dapat menimbulkan retensi air dan garam yang disebabkan oleh adanya gangguan pada volume ekstraseluler, asidosis metabolik, gangguan pengaturan elektrolit seperti hipomagnesia,

hipophosphatemia, hipokalsemia dan pada keadaan yang lebih buruk dapat terjadi gagal ginjal akut (Barclay, 2008).

Salah satu penyebab nekrosis (jejas sel) adalah bahan kimia dan obat-obatan, seperti: obat-obatan terapeutik misalnya acetaminophen dan agen non-terapeutik misalnya timah dan alkohol (Stanley dan Robbins, 2007).

Nekrosis (jejas ireversibel) adalah perubahan morfologik yang mengikuti kematian sel pada jaringan atau organ hidup. Dua proses penyebab perubahan morfologik dasar nekrosis adalah denaturasi protein dan digesti enzimatik organel dan sitosol. Sel yang mengalami nekrotik berwarna eosinofilik, seperti kaca (*glassy*), membran sel pecah-pecah. Perubahan inti sel nekrotik adalah kariopiknosis (inti kecil, padat), kariolisis (inti pucat, larut) dan karioreksis (inti pecah menjadi beberapa gumpalan) (Robbins, 2007)

Semua organisme aerobik pada derajat tertentu dilengkapi dengan sistem pertahanan yang mampu melindungi sel dari pengaruh metabolit oksigen yang secara umum dikerjakan oleh beberapa kelompok enzim protektif seperti: superoksida dismutase (SOD), katalase, reduktase, glutathion peroksidase serta antioksidan endogen antara lain adalah seruloplasmin, transferin, asam askorbat, asam urat, sistein, -tokoferol dan -karoten. Semua sistem perbaikan ini mencegah akumulasi yang rusak akibat proses oksidatif (Wuryastuti, 2000).

Secara histopatologis, etanol dapat menyebabkan hipertrofi dari sel epitel dan degenerasi sel tubulus-tubulus ginjal dengan penampakan infiltrasi sel MN, dan pelebaran glomerulus namun perubahan histologi yang paling sering didapatkan setelah pemberian etanol adalah pelebaran kapiler yang dipenuhi eritrosit baik pada bagian korteks maupun medulla (Brozoska, 2003).

2. Absorpsi dan distribusi Etanol

Setelah pemberian oral, etanol diabsorpsi dengan cepat dari lambung dan usus halus ke dalam aliran darah dan terdistribusi ke dalam cairan tubuh total (Fleming dan kawan-kawan., 2007). Tingkat absorpsi paling tinggi pada saat lambung kosong. Adanya lemak di dalam lambung menurunkan tingkat absorpsi alkohol (Chandrasoma dan Taylor, 2005). Setelah minum alkohol dalam keadaan puasa, kadar puncak alkohol di dalam darah dicapai dalam waktu 30 menit. Distribusinya berjalan cepat, dengan kadar obat dalam jaringan mendekati kadar di dalam darah. Volume distribusi dari etanol mendekati volume cairan tubuh total (0,5-0,7 L/Kg) (Masters, 2002). Alkohol didistribusikan di dalam tubuh (terutama dalam jaringan adiposa), menyebabkan efek dilusi. Hal ini berkaitan dengan berat badan dan menerangkan mengapa orang dengan obesitas memiliki kadar alkohol yang lebih rendah dari pada orang yang kurus untuk jumlah alkohol yang sama (Chandrasoma dan Taylor, 2005).

Beberapa faktor yang mempengaruhi absorpsi etanol yaitu:

a. Kondisi lambung dalam keadaan kosong atau berisi

Pada lambung keadaan kosong, absorpsi sempurna terjadi dalam waktu 1 atau 2 jam, tetapi pada lambung keadaan berisi penuh makanan absorpsi terjadi sampai 6 jam. hal ini sangat penting dalam pengaturan absorpsi etanol.

b. Komposisi larutan etanol yang diminum

Bir lebih lambat diabsorpsi daripada anggur (*wine*) dan anggur lebih lambat daripada spiritus. Hal ini karena minuman keras yang mengandung karbon di absorpsi lebih cepat, karena senyawa karbon dioksida dapat mengambil alih isi lambung. (Darmono, 2007)

Volume distribusi dari etanol mendekati volume cairan tubuh total (0,5-0,71/kg). Pada sistem saraf pusat, konsentrasi etanol meningkat dengan cepat. Otak mampu menampung sebagian besar aliran darah dan etanol melewati membran biologi dengan cepat, sehingga etanol sangat mudah menembus jaringan otak dan plasenta. Selain itu, distribusi etanol antara alveolar paru dengan darah sangat bergantung pada kecepatan difusi, tekanan gas dan konsentrasi etanol dalam kapiler paru (Darmono, 2007; Masters, 2007)